

NOVÉ ZARIADENIE PRE PAPIEROVÚ CHROMATOGRAFIU S PLYNULOU ZMENOU KONCENTRÁCIE ROZPÚŠŤADLA

V. KOMAN, V. PALO

Katedra technickej mikrobiológie a biochémie, špecializácia mlieko — tuky Slovenskej
vysokej školy technickej v Bratislave

Chromatografia sa v mnohých prípadoch ukazuje ako jedna z najúspešnejších preparačných metód. Pri obzvlášť citlivých látkach je jedinou analytickou metódou.

Niekedy možno lepšie rozdelenie zmesi látok dosiahnuť postupnou zmenou koncentrácie kvapalnej fázy. Podľa prác C. Golumbica [2, 3] a R. C. Archibalda [1] k chromatografickému oddelovaniu látok dochádza medzi organickými činidlami a vodou. J. Spiterey a G. Nunez [4] poukazujú na to, že pri určitej koncentrácii rozpúšťadla budú sa oddelovať iba určité členy homologického radu mastných kyselín. H. H. Hahn [5], G. A. Howard a A. J. P. Martin [6] používajú pri oddelovaní mastných kyselín o rôznych koncentráciách metanol a acetón. W. M. L. Crombie a spolupracovníci [7] uvádzajú optimálne koncentračné stupne acetónu pre oddelovanie nasýtených a nenasýtených mastných kyselín. W. Kapitel [8] rozdelil mastné kyseliny C_8 — C_{18} v koncentračnom rozmedzí acetónu 20—80. Koncentračné zmeny rozpúšťadla využívajú vo svojich prácach i H. P. Kaufmann [9], G. A. Garton, A. K. Lough [10] a i. V uvedených prípadoch k zmene koncentrácie rozpúšťadla dochádzalo prerušovane po väčších-menších stupňoch. Nevýhodou pri tom bola obťažnosť a zdĺhavosť, ako aj to, že sa pri rozdeľovaní zmesí nemohli uplatniť koncentrácie medzi dvoma po sebe nasledujúcimi koncentračnými stupňami.

K. A. Donaldson a spolupracovníci [11] zaviedli pri chromatografickom oddelovaní organických kyselín na stĺpci spôsob s plynulou zmenou koncentrácie rozpúšťadla, čím bola odstránená neúčast parciálnych koncentrácií pri oddelovaní. Podobný spôsob použili pri svojich prácach E. J. Roberts a A. Mason [12].

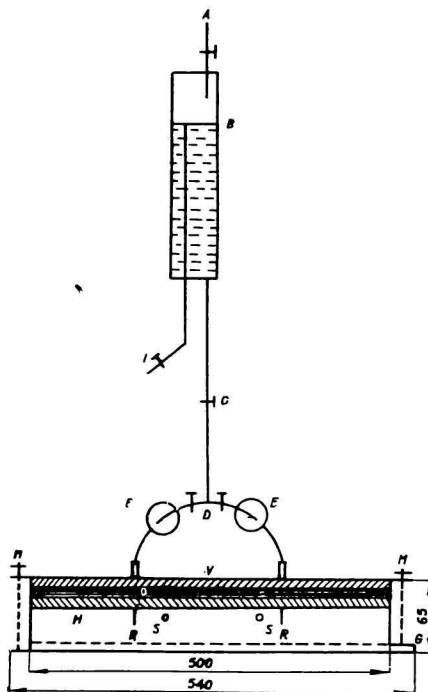
Poznatky plynulej zmeny koncentrácie rozpúšťadla preniesol F. Franks [13] do oblasti papierovej chromatografie. Za takýchto podmienok rozdelil rad nasýtených mastných kyselín C_6 — C_{18} . Tým istým spôsobom rozdelil i skupinu povrchovo aktívnych látok čistiacich prostriedkov [14].

Experimentálna časť

Pri stanovovaní vyšších mastných kyselín sme používali Franksov spôsob. Poznatky a výsledky sme už opisali [15]. Franksov spôsob dovoľuje oddelovať iba obmedzený počet vzoriek. Pre naše účely zhotovili sme na vhodnom princípe zariadenie pre papierovú chromatografiu, ktorým možno za rovnakých pracovných podmienok súčasne oddelovať takmer ľubovoľný počet vzoriek.

Zariadenie

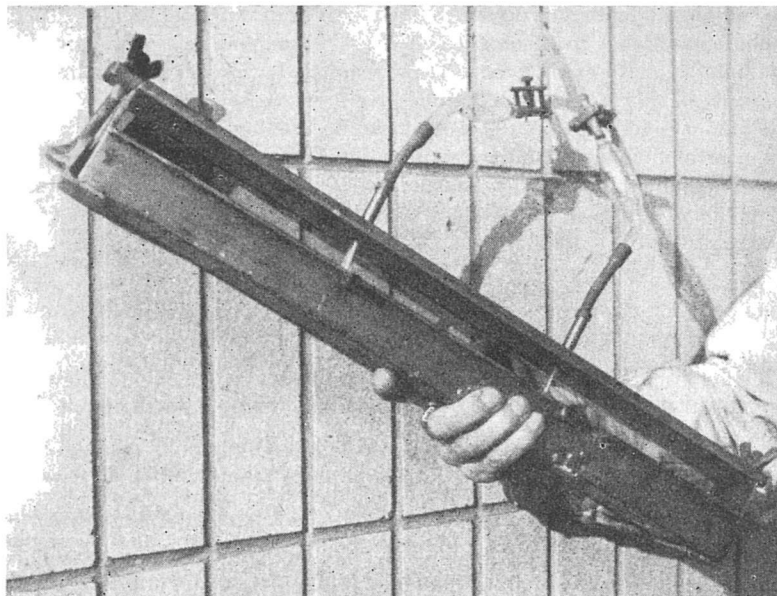
Na obr. 1 je znázornené chromatografické zariadenie, ktoré pracuje s plynulou zmenou koncentrácie rozpúšťadla počas vyvíjania. *A* je zásobník koncentrovaného rozpúšťadla,



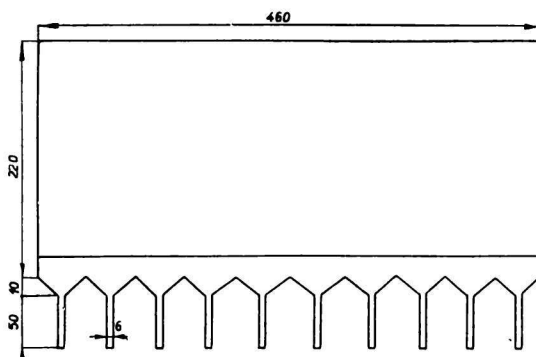
Obr. 1. Schéma zariadenia.

ktoré preteká cez vyrovnávaciu nádobku *B* a uzavierací kohút *C* do rozdeľovača *D* s dvoma tlačkami, ktorými sa reguluje rovnaký prítok rozpúšťadla k obidvom počítacím kvapiek *E* (nádobky na vizuálne počítanie kvapiek). Tieto sú spojené s dvoma tenkými sklenenými rúrkami — prívodnými kapilármi — ktorými sa vedie koncentrované rozpúšťadlo do vyvíjacej nádoby *G* (pozri aj obr. 2). Vyvíjacia nádobka je zhotovená z 3 mm hrubého plechu z nehrdzavejúcej ocele. Je obdĺžnikového tvaru o obsahu 500 ml. Na boku má dva výtokové otvory *S*, ktorými vyteká rozpúšťadlo presahujúce kalibrovaný obsah nádoby. Na vrchu je žliabok uzavretý vrchnákom *V*, v ktorom sú dva otvory pre prívodné kapiláry *R*. Vrchnák je k žliabku upevňovaný dvoma záchytnými skrútkami s krídlovými maticami *M*. Na boku žliabku je 0,5 cm otvor pre prívod inertného plynu, ktorý je dierkovanou rúrkou vedený pozdĺž celého dna žliabku a slúži na miešanie rozpúšťadla. Predná a zadná stena žliabku je nižšia než bočné steny. Do štrbiny vytvorenej čelnou a zadnou stenou, ako aj vrchnákom sa vkladajú konce sklenených dosiek *H*. Medzi tieto sa pri chromatografovaní vkladajú chromatografické papiere tak, aby ich konce vyčnievali a siahali do rozpúšťadla v žliabku. Sklené dosky sú z hladkého zrkadlového skla o rozmeroch 35 × 45,5 cm. Spodné a vrchné dosky majú 10 mm hrúbku. Medzi nimi sú tri dosky, každá o hrúbke 3 mm. Vyvíjacia nádobka je upevnená do stojana, ktorý zároveň nesie sklené dosky.

Pred pokusom sa chromatografický papier upraví podľa obr. 3 a nastaví sa prietoková rýchlosť koncentrovaného rozpúšťadla tlačkami na rozdeľovači *D*, pričom sa súčasne



Obr. 2. Vytváracia nádobka s dvojicou prívodných kapilár a s počítacími kvapiek.



Obr. 3. Tvar chromatografického papiera používaný pri chromatografii s opísaným zariadením.

sleduje množstvo rozpúšťadla vytečeného z otvorov *S* za určitý čas. Po získaní určitej základnej hodnoty prietokovej rýchlosti možno jej stálosť kontrolovať počtom kvapiek pretekajúcich počítacími *E*. Po nastavení zvoleného prietoku sa do nádobky vleje 500 ml rozpúšťadla o východiskovej koncentrácii (koncentrácia, od ktorej sa začne vyvíjať).

Potom sa medzi sklá vložia chromatografické papiere, ktoré sa priložia obojstranne k žliabku tak, aby konce vystrihnutých papierových prúžkov — knôtov — siahali asi 1 cm pod hladinu rozpúšťadla. Sklá sa upevnia k žliabku vrchnákom a utesnia sa k nádobke plastelínou. Tým je priestor vo vyvíjacom žliabku úplne uzavretý. Rozpúšťadlo sa začne premiešavať inertným plynom alebo vzduchom. Súčasne sa otvorí prívod koncentrovaného rozpúšťadla zo zásobnej nádobky a poznačí sa čas — začiatok vyvíjania. Počas vyvíjania sa môže zistiť koncentrácia rozpúšťadla vo vyvíjacej nádobke v ľubovoľnom čase. (Spôsob výpočtu koncentrácie uvedieme v inej práci.) To umožňuje sledovať pohyb jednotlivých zložiek zmesi priebehom oddeľovania (látky so známym koncentračným optimom oddeľovania). Vyvíjanie sa môže uskutočňovať i pri jednej koncentrácii počas akéhokoľvek času — odstaviť sa prítok koncentrovaného rozpúšťadla do vyvíjacej nádobky; potom sa znova môže pokračovať vo vyvíjaní s meniacou sa koncentraciou rozpúšťadla.

Diskusia

Uvedené zariadenie s plynulou zmenou koncentrácie rozpúšťadla má oproti už opísaným zariadeniam [11, 12, 13] výhodu v tom, že možno na ňom oddeľovať súčasne a za rovnakých pracovných podmienok veľký počet vzoriek. V porovnaní s predchádzajúcimi spôsobmi je výhoda vo vlastnej postupnosti zmien koncentrácie nepretržitým spôsobom v celom zvolenom koncentračnom rozsahu.

Celý systém je dokonale uzavretý a sýtený parami rozpúšťadla. Tým sa i napriek kratšej dobe vyvíjania a menšej vzdialenosti čela od štartu dosahuje ostré rozdelenie.

Celé zariadenie je pomerne jednoduché. Rýchlosť zmien koncentrácie je ľahko regulovateľná a možno vyvíjať ľubovoľnú dobu rozpúšťadlom o tej istej koncentrácii. To možno s úspechom využiť na určovanie optimálnych koncentracií rozdeľovaných zmesí, ako aj na preparačné účely čistých látok. Všetky použité spoje medzi sklenenými rúrkami boli z plastickej látky. Zariadenie je potrebné pred pokusom vyrovnáť do vodováhy. Namiesto pretlakového miešania bolo by výhodnejšie mechanické miešanie rozpúšťadla, lebo pri neopatrnej regulácii prívodu plynu drobné kvapôčky rozpúšťadla ľahko vystrekujú na neponorený papier a na tomto mieste potom čelo postupuje nerovne.

Súhrn

Opísali sme nové zariadenie pre papierovú chromatografiu s nepretržitou zmenou koncentrácie rozpúšťadla počas vyvíjania. Možno ním za rovnakých pracovných podmienok súčasne oddeľovať značné množstvo vzoriek nanesených na celej šírke chromatografického papiera. V dôsledku dokonalého sýtenia celého systému sú oddelené zložky ostro ohraničené, doba vyvíjania je pritom kratšia.

Uvedené zariadenie možno s výhodou použiť v laboratóriách pri sériovom spracovávaní väčšieho množstva vzoriek.

Výsledky získané pri oddeľovaní vyšších mastných kyselín, ako aj spôsob sledovania zmien koncentrácie počas vyvíjania uvedieme v ďalšej práci.

НОВОЕ ОБОРУДОВАНИЕ ДЛЯ ХРОМАТОГРАФИИ НА БУМАГЕ ПРИ НЕПРЕРЫВНОМ ИЗМЕНЕНИИ КОНЦЕНТРАЦИИ РАСТВОРИТЕЛЯ

V. KOMAN, V. PALO

Кафедра технической микробиологии и биохимии, специализация молоко — жир
Словацкой высшей технической школы в Bratislave

Выводы

Описано новое оборудование для хроматографии на бумаге при непрерывном изменении концентрации растворителя в течении проявления. Этим методом возможно одновременно делить большое количество образцов нанесенных по целой ширине хроматографической бумаги при одинаковых рабочих условиях. В результате полного насыщения целой системы отделенные компоненты остро ограничены и время проявления при этом короче.

С выгодой возможно приведенный способ применить в лаборатории для серийной обработки большого количества образцов.

Результаты приобретенные при делении высших жирных кислот, как и способ наблюдения изменений концентрации в течении проявления будут приведены в следующей работе.

Поступило в редакцию 4. 1. 1958 г.

NEUE VORRICHTUNG FÜR DIE PAPIERCHROMATOGRAPHIE MIT KONTINUIERLICHER KONZENTRATIONSÄNDERUNG DES LÖSUNGSMITTELS

V. KOMAN, V. PALO

Lehrstuhl für technische Mikrobiologie und Biochemie, Spezialisierung Milch — Fette
an der Slowakischen Technischen Hochschule in Bratislava

Zusammenfassung

Die Autoren beschrieben eine neue Vorrichtung für die Papierchromatographie mit kontinuierlicher Konzentrationsänderung des Lösungsmittels während des Entwickelns des Chromatogramms. Diese Vorrichtung ermöglicht die gleichzeitige Trennung einer bedeutenden Menge von Mustern, welche auf der gesamten Breite des chromatographischen Papiers unter gleichen Arbeitsbedingungen aufgetragen werden. Zuzufolge einer gründlichen Sättigung des gesamten Systems werden die einzelnen Komponenten scharf abgegrenzt, wobei die Entwicklungsdauer kürzer wird.

Das angeführte Verfahren kann mit Vorteil in Laboratorien bei serienmässiger Verarbeitung einer grösseren Menge von Mustern angewandt werden.

Die bei der Trennung höherer Fettsäuren erhaltenen Ergebnisse, ebenso auch das Verfahren zur Untersuchung der Konzentrationsänderung während des Entwickelns, werden angegeben werden.

In die Redaktion eingelangt den 4. 1. 1958

LITERATÚRA

1. Archibald R. C., *J. Am. Chem. Soc.* *54*, 3178 (1932). — 2. Golumbic C., *Anal. Chem.* *23*, 1210 (1951). — 3. Golumbic C., Orchin M., Weller S., *J. Am. Chem. Soc.* *71*, 2624 (1949). — 4. Spitery J., Nunez G., *Compt. rend.* *2*, 603 (1952). — 5. Silk M. H., Hahn H. H., *Biochem. J.* *56*, 406 (1954). — 6. Howard G. A., Martin A. J. P., *Biochem. J.* *46*, 532 (1950). — 7. Crombie W. M. L., Comber R., Boatman S. G., *Biochem. J.* *59*, 309 (1955). — 8. Kapitel W., *Fette, Seifen Anstrichmittel* *58*, 91 (1956). — 9. Kaufmann H. P., Budwig J., *Fette u. Seifen* *53*, 390 (1951). — 10. Garton G. A., Lough A. K., *Biochim. Biophys. Acta* *23*, 192 (1957).
11. Donaldson K. A., Tulane V. J., Marshall L. M., *Anal. Chem.* *24*, 85 (1952). — 12. Roberts E. J., Mason A., *Anal. Chem.* *28*, 1063 (1956). — 13. Franks F., *Analyst* *964*, 384 (1956). — 14. Franks F., *Analyst* *964*, 390 (1956). — 15. Palo V., Koman V., *Sborník vedeckých prác Chemickej fakulty SVŠT*, Bratislava 1956 (v tlači).

Došlo do redakcie 4. 1. 1958